(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 7 月 19 日 (19.07.2012)

W 画P O ¦ P C T

(10) 国際公開番号
W O 2012/096245 A 1

(51) 国際特許分類：
G01N 33/53 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP20 12/050226

(22) 国際出願日： 2012 年 i 月 10 日 (10.01 .2012)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 201 1-003016 201 1 年 1 月 11 日 (1 1.01 .201 1) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について)：三菱化学メディエンス株式会社 (Mitsubishi Chemical Medience Corporation) [JP/JP]; 〒 1088559 東京都港区芝浦四丁目2番8号 Tokyo (JP). 持田製薬株式会社 (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒 1608515 東京都新宿区四谷一丁目7番地 Tokyo (JP).

(72) 発明者；および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ)：松屋 毅 (MATSUYA Takeshi) [JP/JP]; 〒 1088559 東¾都港区芝浦四丁目2番8号 三菱化学メディエンス株式会社内 Tokyo (JP). 岡村 佳和 (OKAMURA Yoshikazu) [JP/JP]; 〒 1088559 東京都港区芝浦四丁目2番8号 三菱化学メディエンス株式会社内 Tokyo (JP). トーメ，ラルフ (THOMAE, Ralf) [DE/DE]; フォルストヴェーク 12，82131 カウティング Gauting (DE). シュパヌート，エーベルハルト (SPANUTH, Eberhard) [DE/DE]; フリードリヒシュトラーセ 26，69221 ハイデルベルク，Heidelberg (DE). イヴァンディッチ，ボリス (VANDIC, Boris) [DE/DE]; ィンシュトラーセ 16，81679 ミュンヒェン Muenchen (DE). 白川 嘉門 (SHIRAKAWA Kamon) [JP/JP]; 〒 16085 15 東京都新宿区四谷一丁目7番地 持田製薬株式会社内 Tokyo (JP). 遠藤 重厚 (ENDO Shigeatsu) [JP/JP]; 〒 020001 1 岩手県盛岡市三ッ割 4 丁目 2 — 5 5 Iwate (JP).

(74) 代理人：森田 憲一，外 (MORITA Kenichi et al); 〒 1730004 東京都板橋区板橋二丁目 6 7 番 8 号 板橋中央ビル 5 階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能)：AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

— 国際調査報告 (条約第 21 条 (3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

W 2012/096245 A1

(54) Title: METHOD FOR PREDICTION OF PROGNOSIS OF SEPSIS

(54) 発明の名称：敗血症の予後の予測方法

(57) Abstract: Disclosed is a method for predicting the prognosis of sepsis, characterized by measuring sCD14-ST in a sample. sCD14-ST, which is a substance to be measured in the present invention, is a superior marker than procalcitonin which is a known marker for the prediction of prognosis in a sepsis patient.

(57) 要約：試料中のｓＣＤ１４—ＳＴを測定することを特徴とする、敗血症の予後の予測方法を開示する。本発明における測定対象であるｓＣＤ１４—ＳＴは、敗血症患者においてその予後を予測するマーカーとして公知であるプロカルシトニンよりも優れたマーカーである。

明 細 書

発明の名称 :敗血症の予後の予測方法

技術分野

[0001] 本発明は、敗血症の予後の予測方法と、該方法を実施するキットに関する。

背景技術

[0002] 試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴを測定して敗血症を診断することが開示されている（非特許文献１、特許文献１）。また、ｓＣＤ１４—ＳＴをその特異的抗体によって測定することも開示されている（特許文献１、特許文献２）。また、その早期検出及び重篤度を評価する方法が開示されている（特許文献２、非特許文献２—４）。そこでは、ある時点での患者の状態が重篤であるかそうでないかが評価できること、また、敗血症が生じた際に直ぐに敗血症であるか否かを評価できることが開示されているのみで、敗血症が疑われた際にｓＣＤ１４＿ＳＴを測定することにより、該敗血症が生じてから数日から数十日後の、敗血症の予後を予測できることは推測も開示もされていない。

[0003] ところで、ｓＣＤ１４＿ＳＴ以外の敗血症の診断マーカーとしてプロカルシトニン（ＰＣＴ）が知られている。プロカルシトニンは、測定時において敗血症であるか否かの評価ができるだけでなく、敗血症の重篤度の程度の予測、すなわち、予後（特には死亡リスク）を評価できるとされており（非特許文献５）、米国ＦＤＡで敗血症の重篤度の程度を予測できるマーカーとして承認されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献１ :特許第４０４０６６６号明細書

特許文献２ :特開２００５＿１０６６９４号公報

非特許文献

[0005] 非特許文献1 :J Infect Chemother 2005 ;11 :234-238.
非特許文献2 :Medical Postgraduates 2010 ;48 :25-27.
非特許文献3 :Therapeutic Reserach 2004 ;25 :1689-1694.
非特許文献4 :ICUとCCV 2005 ;29 :21-26.
非特許文献5 :Am J Respir Crit Care Med 2001 ;164 :396-402.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 敗血症が疑われた後、それに対する適切な治療方針を迅速に決定することが求められている。本発明の課題は、敗血症患者においてその予後を予測するマーカーとして公知であるプロカルシトニンよりも優れた、予後予測に利用可能な新規マーカーを提供することにある。

課題を解決するための手段

[0007] 前記課題の解決手段を鋭意探求する中で、本発明者は、敗血症が疑われた後72時間以内に、試料中のsCD14—STを測定することにより、その測定値あるいは程度から、敗血症が生じてから数日から数十日後に、その予後がどの程度重篤になるのか (いわゆるリスク層別化)、あるいは、死亡リスクを予測できることを発見し、本発明を完成した。

[0008] 本発明は、

[1] 試料中のsCD14—STを測定することを特徴とする、敗血症の予後の予測方法、

[2] 敗血症の疑いが生じてから72時間以内にsCD14-STを測定する、[1]の予測方法、

[3] 予後予測が、敗血症における合併症併発の予測である、[1]の予測方法、

[４] 敗血症の予後を予測するための、試料中のｓＣＤ１４—ＳＴを測定する方法、

[５] 敗血症の疑いが生じてから７２時間以内にｓＣＤ１４- ＳＴを測定する、 [４] の測定方法、

[６] 敗血症の治療を行った後、ｓＣＤ１４—ＳＴを測定する、 [４] の測定方法、

[７] 予後予測が、敗血症における合併症併発の予測である、 [４] の測定方法、

[８] 敗血症が疑われる患者又は敗血症患者から採取した試料中のｓＣＤ１４—ＳＴを測定する工程、

ｓＣＤ１４—ＳＴ値が健常者と比較して高値である場合に予後不良であると判断する工程

を含む、敗血症の予後の予測方法、

[９] 前記判断工程において、ｓＣＤ１４—ＳＴ値と予め決定した閾値とを比較する、 [８] の方法、

[１０] 前記判断工程において、ｓＣＤ１４—ＳＴ値と、予め決定した各分位群とを相関させる、 [８] の方法、

[１１] 該ｓＣＤ１４_ＳＴを免疫学的測定方法で測定する、 [１] ~ [１０] のいずれかの方法、

[１２] 敗血症の予後を予測するキットであって、

（ａ）ｓＣＤ１４_ＳＴに特異的な抗体、

（ｂ）試料中のｓＣＤ１４—ＳＴの量と予後との相関を示す標準データ、

（ｃ）取扱説明書

を含む、該キット

に関する。

[0009] 本明細書において「ヒトｓＣＤ１４_ＳＴ」（別称としてプレセプシン（登録商標）ともいう）とは、特許第４０４０６６６号明細書に記載の 第１の態様の可溶性ＣＤ１４抗原」を意味し、より具体的には、下記の１）~ ３

）の性質を有する可溶性ＣＤ１４抗原である。

１）非還元条件下ＳＤＳ＿ＰＡＧＥでは、分子量１３±２ｋＤａ、

２）Ｎ末端配列に配列番号１のアミノ酸配列を有する、及び

３）配列番号２に記載の１６アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体に特異的に結合する。

なお、本明細書中において「ｓＣＤ１４＿ＳＴ」は特に断りのない限りヒトｓＣＤ１４＿ＳＴを意味する。

[001 0] 配列番号１：

Thr Thr Pro GLu Pro Cys GLu Leu Asp Asp GLu

1 5 10

配列番号２：

Arg Va L Asp ALa Asp ALa Asp Pro Arg GLn Tyr ALa Asp Thr Va L Lys

1 5 10 15

[001 1] 敗血症」とは、感染の存在に加え、例えば、全身性炎症反応症候群（ＳＩＲＳ）診断項目である以下４項目のうち２項目以上を満たす状態の事を言う〔Ｃｈｅｓｔ １９９２；１０１（６）：１６４４—１６５５〕。

１）体温＞３８℃または＜３６℃

２）心拍数＞９０回/分

３）呼吸数＞２０回/分または$PaCO_2$＞３２ｔｏｒｒ

４）白血球数＞１２０００、＜４０００／mm^3または未熟型白血球＞１０％

[001 2] 前記感染とは、細菌、真菌、寄生虫、またはウィルスなどが挙げられる。

感染の存在を確認する方法としては、特に限定するものではないが、一般的に行われている血液培養の他に遺伝子同定法（ＰＣＲ、ＲＰ—ＰＣＲなど）、画像診断、超音波診断、内視鏡検査、生検などが挙げられる〔Ａｍ Ｊ Ｉｎｆｅｃｔ Ｃｏｎｔｒｏｌ １９８８；１６：１２８＿１４０〕。

[001 3] 重症敗血症」とは、少なくとも１つの臓器不全の兆候（例えば低酸素血症、乏尿症、代謝性アシドーシス、または大脳機能異常）によって明らかである臓器低灌流を更に伴う敗血症をいう。

敗血症性ショック」とは、収縮期血圧< ９０ｍｍＨｇまたは血圧保持のための薬剤介入の必要性によって明らかである低血圧を更に伴う 重症敗血症」をいう。

敗血症の合併症」としては、多臓器機能不全症候群 (ＭＯＤＳ)、播種性血管内凝固症候群 (ＤＩＣ)、急性呼吸促迫症候群 (ＡＲＤＳ)、急性腎不全 (ＡＫＩ)などが挙げられる。敗血症の合併症は、敗血症が重症敗血症、敗血症性ショックと重篤度が高くなるにつれ、併発する可能性が高くなる。例えば 『ＭＯＤＳ (多臓器不全症候群)」は、複数の重要臓器が同時に機能障害を起こす症候群であり、ＳＩＲＳとの関連で同定される。

本明細書で使用される 敗血症」は、敗血症の最終段階と関連する敗血症、 重症敗血症」 敗血症性ショック」及び前記 敗血症の合併症」の発病を含むが、限定されない敗血症の全ての段階を含む。

[0014] 敗血症は、抗生物質および支持療法が可能であるにも関わらず、死亡症例の重大な原因となっている。最近の研究における推定では、米国において毎年７５１，０００症例の重症敗血症が発生しており、その死亡率は３０—５０％である。２００２年にアメリカ集中治療医学会 (ＳＣＣＭ)とヨーロッパ集中治療医学会 (ＥＳＩＣＭ)、およびＩＳＦ (Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｓｅｐｓｉｓ Ｆｏｒｕｍ)に所属する集中治療や感染症の専門家が、重症敗血症の死亡率を向こう5年間で２５％低下させることを目的に、"Ｓｕｒｖｉｖｉｎｇ Ｓｅｐｓｉｓ Ｃａｍｐａｉｇｎ (ＳＳＣ)”と称する国際的なプログラムを立上げ、その取組みの一環としてＳｕｒｖｉｖｉｎｇ Ｓｅｐｓｉｓ Ｃａｍｐａｉｇｎ ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓ (ＳＳＣＧ)が作成されている。このガイドラインは２００４年にはじめてエビデンスに基づいた重症敗血症の診断・治療のガイドラインとして発表され、２００８年にはその改訂版が発表されている 〔Ｃｒｉｔ Ｃａｒｅ Ｍｅｄ．２００８；３６：２９６＿３２７〕。これらのガイドラインは、重症敗血症に対する初期輸液療法 (ｅａｒｌｙ-ｇｏａｌ ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｔｈｅｒａｐｙ)などを基盤とするものである 〔Ｎｅｗ Ｅｎｇ に Ｊ．Ｍｅｄ．２００

１；３４５：１３６８—１３７７〕。

本ガイドラインに記載された敗血症の治療には、例えば抗菌薬、輸液療法、血管収縮薬、強心薬、ステロイド療法、血液製剤、血糖コントロール、血液浄化法（持続的血液ろ過（ＣＨＦ）、持続的血液ろ過透析（ＣＨＤＦ）、血液透析（ＨＤ）〕、外科手術（膿瘍ドレナージ、感染性壊死組織除去）などが挙げられているが、その他にエンドトキシン吸着療法（ＰＭＸ）やァ—グロプリン製剤も挙げられる〔Ｃｒｉｔ Ｃａｒｅ Ｍｅｄ．２００８；３６：２９６-３２７〕。敗血症治療剤は上記に例示した薬剤に限定されるものではないが、例えば、水島裕編集、「今日の治療薬 解説と便覧 ２００６」、南江堂（２００６年）等が参考にできる。

[001 5] 本明細書において「予後」とは、敗血症が疑われてから患者がどのような経過をたどるのかを言う。例えば予後のリスクとして、人工呼吸治療、ＩＣＵ（集中治療室）への移動、透析、合併症の併発、死亡等があり、それらのリスクは、従来知られているマーカーと比べて識別可能である。特に、透析リスクや死亡リスクは、精度良く予測することができる。

本明細書において予後の「予測」とは、敗血症が疑われてから患者がどのような経過をたどるのかを予測することを言う。「予測」する手法の一つとして、「リスク層別化」がある。「リスク層別化」とは、敗血症の重篤度によって分類して判別することである。重篤度による分類としては、高度、中度、低度などの病態の程度に分けることもできるし、ＳＩＲＳ、初期敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックなどの病態の種類に分けることもできる。また、死亡リスク又は生存率を分類することもできる。

発明の効果

[001 6] 本発明方法によれば、敗血症の発症の初期段階において、その予後の良否、例えば、予後の重篤度や、死亡リスク又は生存率を予測することができる。その予測の正確性は、米国ＦＤＡで敗血症の重篤度の程度を予測できるマ—カーとして承認されているプロカルシトニンと比べて、遙かに優れている。

また、本発明方法によれば、前記で予測された予後に合わせて、適切な治療方針を策定することができ、該治療後においても、その予後の良否、例えば、予後の重篤度や、死亡リスク又は生存率を予測することができる。すなわち、治療効果を予測することができる。

また、本発明方法によれば、予測された予後の重篤度に合わせて、敗血症の合併症を予測することができる。

また、本発明のキットは、本発明方法に用いることができる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1] 敗血症が疑われた患者 (146名) に関して、来院時に採取した血漿検体のsCD14_ST値と来院後30日以内の生存率の関係を示すグラフである。I群～IV群におけるsCD14—ST値は、それぞれ、177～512pg/mL (I群)、524～927pg/mL (II群)、950～1810pg/mL (III群)、1858pg/mL以上 (IV群) である。

[図2] 敗血症が疑われた患者 (146名) に関して、来院時に採取した血漿検体のsCD14_ST値と来院後30日以内の生存率の関係を示すグラフである。閾値を920ng/mLとし、閾値よりも低い値を示す患者群がa群、閾値又はそれよりも高い値を示す患者群がb群である。

[図3] 図2と同じ患者に関して、来院時に採取した血漿検体のプロカルシトニン (PCT) 値と来院後30日以内の生存率の関係を示すグラフである。閾値を1.86ng/mLとし、閾値よりも低い値を示す患者群がa群、閾値又はそれよりも高い値を示す患者群がb群である。

[図4] 敗血症が疑われた患者 (146名) に関して、来院時に採取した血漿検体のsCD14_ST値とPCT値それぞれに対して来院後30日以内の死亡率をROC分析で比較を行った結果を示すグラフである。

[図5] 敗血症が疑われた患者 (146名) に関して、来院時 (a群)、24時間後 (b群)、72時間後 (c群) に血漿検体を採取し、各採血ポイントのsCD14_ST値に対して来院後30日以内の死亡率をROC分析により比較を行った結果を示すグラフである。

[図6] 図５と同じ患者に関して、来院時 (a群)、２４時間後 (b群)、７２時間後 (c群)に血漿検体を採取し、各採血ポイントのＰＣＴ値に対して来院後３０日以内の死亡率をＲＯＣ分析により比較を行った結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0018] 本発明の予測方法又は測定方法 (以下、本発明方法と称する)では、被検対象者、特に、敗血症が疑われる患者又は敗血症患者から採取した試料中のＳＣＤ１４—ＳＴを測定する。このような被検対象者には、例えば、抗菌剤治療を必要とする感染症、あるいは、悪化した感染症の患者も含まれる。

ｓＣＤ１４＿ＳＴの測定方法それ自体は公知であり、タンパク質の各種の公知分析方法、例えば、抗体を用いる免疫学的分析方法、電気泳動等の生化学的分析方法により実施することができ、臨床検査用の自動分析機を使用することもできる。ＲＮＡアプタマーなど、抗体と類似の性質を有する物質を利用する分析方法も本発明の一部である。

[0019] 例えば、特許第４０４０６６６号明細書には、ヒトｓＣＤ１４＿ＳＴの測定方法、より具体的には、配列番号２に記載の１６アミノ酸残基からなるペプチド (特許第４０４０６６６号明細書に記載のＳ６８ペプチド)を抗原として作製したポリクローナル抗体 (Ｓ６８抗体)、モノクローナル抗体 (Ｆ１１４６-１７—２抗体)と、抗ＣＤ１４抗原モノクローナル抗体 (例えば、Ｆ１０３１-８-３抗体、Ｆ１１０６-１３-３抗体等)との組合せを用いたサンドイッチＥＩＡ系 [特許第４０４０６６６号明細書の実施例７-(１)] が開示されており、本発明方法に適用することができる。

また、後述する実施例に示すように、ｓＣＤ１４＿ＳＴの測定は、磁性粒子を使用した化学発光酵素免疫測定法により、自動化学発光免疫測定装置 (ＰＡＴＨＦＡＳＴ ;三菱化学メディエンス社)を使用して実施することもできる。

[0020] 本発明方法で用いる試料としては、ｓＣＤ１４＿ＳＴの測定が可能である限り、特に限定されるものではなく、例えば、血液試料 (例えば、全血、血

漿、血清）、尿、リンパ液、脳脊髄液、その他の体液を用いることができる。

[0021] 本発明方法では、試料中のｓＣＤ１４—ＳＴ濃度の上昇を、予後不良の指標とする。例えば、後述する実施例２に示すように、ｓＣＤ１４＿ＳＴ値が高くなるにつれて生存率が低くなり、ｓＣＤ１４＿ＳＴ値が高値である患者群（Ⅳ群；１８５８ｐｇ/ｍＬ以上）では生存率が３５％であった。このように、本発明方法では、ｓＣＤ１４—ＳＴ値が高値を示す場合には、敗血症の予後の状態が不良であり、死亡リスクが高いと判定することができる。一方、ｓＣＤ１４＿ＳＴ値が低値を示す場合には、敗血症の予後の状態が良好であり、死亡リスクが低いと判定することができる。例えば、試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴ濃度が健常人の分位数（例えば、中央値）より高ければ、敗血症の予後の状態が不良であると判定できる。また、Ｃｏｘ回帰やロジスティック回帰などの統計学的手法によって行うことができる。また、ｓＣＤ１４＿ＳＴ値の程度によって、敗血症の予後の重篤度を予測することができる。判定のための基準は、事前に用意しておいた「閾値」を使用することができる。

[0022] 本発明方法において、予後予測を行うためのｓＣＤ１４＿ＳＴ濃度の閾値は、種々条件、例えば、性別、年齢などにより変化することが予想されるが、当業者であれば、被験者に対応する適当な母集団を適宜選択して、その集団から得られたデータを統計学的処理を行うことにより、判定用閾値を決定することができる。前記母集団としては、健常人群、敗血症群、敗血症の各病態の程度群、敗血症の各病態の種類群などが選択できる。後述する実施例４では、図４に示すＲＯＣ（receiver operating characteristic）分析を行うことにより、１１０８ｐｇ/ｍＬの最適カットオフ値（感度＝７８％、特異度＝６６％）を決定している。本発明方法では、判定用閾値を決定し、試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴ濃度の測定値と判定用閾値を比較することにより、医師の判断を必要とすることなく、自動的に、敗血症の予後の予測を行うことができる。

[0023] 本発明方法において、検体の採取時期は、敗血症の疑いが生じた段階、治療を行った後などが好ましいが、患者が入院してから経時的に採取しても良し。具体的には、病院や救急病棟に初めて入院した時、集中治療室での治療前・治療後、治療後２４時間、治療後４８時間、治療後７２時間などが挙げられる。

[0024] 本発明方法の第１の態様としては、敗血症の発症の初期段階に、その予後を予測することができる。敗血症の発症の初期段階とは、敗血症の疑いが生じた段階も含まれる。

敗血症の疑いが生じた段階とは、例えば、従来の臨床症状が敗血症の臨床的疑いを支持するのに十分な段階の前の、敗血症の早期段階をいう。本発明の方法は、従来の診断ガイドラインを使用して敗血症と認められる時より前に敗血症を検出するために使用することができるので、特定の実施態様において、初期敗血症における患者の疾患状態は、敗血症の徴候がより臨床的に明らかであるときよりも過去にさかのぼって確認される。すなわち、医師が臨床症状により、敗血症の臨床的疑いをもった段階ということもできる。具体的には、患者が病院やＩＣＵ等に運ばれてから７２時間以内に、医師が敗血症の臨床的疑いをもった段階をいう。患者が敗血症になる正確な機構は、本発明の重要な実施態様ではない。本発明の方法は、感染過程の起源とは独立して敗血症の発病を検出することができ、敗血症の疑いが生じた段階で、その予後の予測を行うことができるので非常に有用である。

[0025] 本発明方法の第２の態様としては、敗血症の治療効果に起因する予後を予測する事が出来る。治療効果に起因する予後を予測するとは、特に限定するものではないが、次のような治療効果をモニタリングする使い方が考えられる。例えば、来院後に治療を行う前、治療を行った後、治療効果が現れる時期に検体を採取し、治療を行ったにも関わらず設定した閾値を超えた場合に、治療効果がなく予後不良が予測される。また、来院時にすでに閾値を超えた病態から治療によって閾値よりも低下した場合は、治療効果があり予後が良いと予測される。

[0026] 本発明方法の第３の態様としては、敗血症の合併症を生じるか予測する事が出来る。敗血症の合併症を生じるか予測するとは、特に限定するものではないが、設定した閾値を超えた場合に合併症併発の可能性が高くなると予測される。また、設定した閾値よりも低値の場合は、合併症併発の可能性が低くなると予測される。

[0027] 本発明のキットは、本発明方法を実施するのに用いることができ、

（ａ）ｓＣＤ１４＿ＳＴに特異的な抗体、

（ｂ）試料中のｓＣＤ１４―ＳＴの量と予後との相関を示す標準データ、

（ｃ）取扱説明書

を含む。

[0028] 本発明のキットに用いる前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体のいずれであることもできる。また、ｓＣＤ１４＿ＳＴへの特異的結合能を保持する抗体断片、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ'、Ｆ（ａｂ'）$_2$、又はＦｖとして、キットに用いることもできる。

更に、前記抗体は、そのままの状態でキットに用いることもできるし、利用する免疫学的手法に基づいて、それに適した形態、例えば、ラテックス凝集免疫測定法を利用するのであれば、ラテックス担体に固定した状態で、磁性粒子などを利用した高感度測定法を利用するのであれば、磁性粒子に固定した状態で、イムノクロマトグラフ法などの基板を利用する方法であれば、基板に固定した状態で、標識物質（例えば、酵素、蛍光物質、化学発光物質、放射性同位体、ビオチン、アビジン）による標識の必要があれば、標識化した状態で、キットに用いることもできる。

[0029] 本発明のキットに含まれる前記標準データは、試料中のｓＣＤ１４―ＳＴの量と予後との相関を示すものである限り、特に限定されるものではないが、例えば、判定用閾値、あるいは、判定用閾値を算出するためのオリジナルデータ又は統計処理データなどを挙げることができる。該標準データは、前記取扱説明書中に記載されても良いし、別にデータシートとして添付しても良い。また、添付される文書の形態は、紙、ＣＤ―ＲＯＭ等の電子媒体、ホ

—ムページ等からのダウンロー ドも含まれる。

また、本発明のキットに含まれる前記取扱説明書は、少なくとも、試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴの量と敗血症の予後との関係に言及するものであれば、特に限定するものではなく、前記言及に加え、例えば、本発明のキットを使用する免疫学的測定の実施手順に関する説明、得られた測定値に基づいて予後を予測する手順に関する説明、キット自体の保存・取り扱いなどに関する注意事項などを含むことができる。

実施例

[0030] 以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

[0031] 敗血症の前向き研究として１施設の臨床現場で一定期間、登録された救急患者を対象に行った。なお、この試験は倫理委員会の承認を得て行った。試験に登録された患者は、重症感染症の徴候が認められて救急病院に入院した１８才以上の男女で、以下４項目のうち２項目以上を満たし、明らかな敗血症の徴候あるいは敗血症が強く疑われた場合を対象とした。

１）体温＞３８℃または＜３６℃

２）心拍数＞９０回/分

３）呼吸数＞２０回/分またはＰａＣ0_2＞４．３ｋＰａ

４）白血球数＞１２０００、＜４０００／$_{m3}$または未熟型白血球＞１０％

試験登録時の感染の有無は、血液培養結果を必須とせず、医師が患者の臨床所見や症状を見て判断を行なった。なお、試験登録後の血液培養結果により、敗血症ではないＳＩＲＳであると判明した患者は対象外とした。

[0032] ｓＣＤ１４＿ＳＴの測定に使用するサンプルは、患者から入院直後、２４時間後、７２時間後にＥＤＴＡ血漿を採取し、測定するまで—７０℃で保存した。入院直後とは、入院してから6時間以内の事を示す。

また、入院後の重症度の判定は、"Ａｃｕｔｅ Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｙ Ａｎｄ Ｃｈｒｏｎｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｃｏｒｅ Ⅱ" (ＡＰＡＣＨＥⅡ)、"Ｇｌａｓｇｏｗ Ｃｏｍａ Ｓｃａｌｅ" (ＧＣＳ)、"Ｓｅｐｓｉ

s—related Organ Failure Assessment Score" (SOFA)、"Mortality in Emergency Department Sepsis" (MEDS)を用いて行った。

予後の判定は、救急病院に入院してから30日以内に死亡した日、または集中治療室 (ICU)入移動、人工呼吸、腎代替療法 (例えば、透析)のいずれかの状態に移行した日で行った。30日以内に退院した場合には、30日後に電話で生死状態を確認した。

[0033] 《実施例1 :sCD14_STの測定方法》

sCD14-STの測定は、特許第4040666号明細書の実施例7-(1)を改変して行った。すなわち、アルカリフォスファターゼ (ALP)標識したポリクローナル抗体 (S68抗体)と、磁性粒子 (JSR社製)に固定化したモノクローナル抗体 (F1031_8—3抗体)を使用し、自動化学発光酵素免疫測定装置であるPATHFAST (三菱化学メディエンス社製)で測定した。アルカリフォスファターゼ (ALP)標識したポリクローナル抗体 (S68抗体)は、該ポリクローナル抗体 (S68抗体)のFab' 画分を調製し、マレイミド法によりALPと結合させて作製した。発光基質は、CDP—star (アプライドバイオシステム社製)を使用した。

測定は以下の手順に従って行った。まず、検体を磁性粒子固定化抗体とALP標識抗体を反応させ、検体中のsCD14-STと前記2つの抗体で複合体を形成させた後、この複合体を磁力体で収集し、結合しなかったALP標識抗体を除いた。発光基質を加え、発光量をsCD14—ST量として検出した。

[0034] 《実施例2 :sCD14_ST値と生存率の関係》

敗血症が疑われた患者146名を対象に、来院時に採取した血漿検体のsCD14_ST値と来院後30日以内の生存率の関係を図1に示す。sCD14—ST測定は、実施例1に従って行った。図1において、横軸は、患者来院後の経過日数を示す。縦軸は生存率 (低くなるほど死亡率が高い)を示

す。

[0035] ｓＣＤ１４―ＳＴ値を4段階〔１７７～５１２ｐｇ/ ｍＬ（図1における Ｉ群）、５２４～９２７ｐｇ/ ｍＬ（Ⅱ群）、９５０～１８１Ｏｐｇ/ ｍＬ（III 群）、１８５８ｐｇ/ ｍＬ以上（IV群）〕に分類し分析したところ、値が高くなるにつれて生存率が低くなり、来院時に１８５８ｐｇ/ ｍＬ以上のｓＣＤ１４＿ＳＴ値を示した患者群IVでは生存率３５％であった（ＩＩＩ群とIV群との間の有意性：Ｐ< ０．０００５）。以上の結果から、ＳＣＤ１４―ＳＴ値は、敗血症患者の死亡リスクを予測できることが判明した。

[0036] 《実施例３：プロカルシトニン（ＰＣＴ）とｓＣＤ１４＿ＳＴによる生存率の比較評価》

敗血症が疑われた患者１４６名（実施例２と同じ）を対象に、来院時に採取した血漿検体のｓＣＤ１４―ＳＴ値、ＰＣＴ値それぞれに対し来院後３０日以内の生存率の関係を図２（ｓＣＤ１４-ＳＴ）及び図３（ＰＣＴ）に示す。ｓＣＤ１４＿ＳＴ測定は、実施例１に従って行った。ＰＣＴ測定は、Ｋｒｙｐｔｏｒ ａｕｔｏｍａｔｅｄ ａｎａｌｙｚｅｒ（ＢＲＡＨＭＳ社，ドイツ）専用測定試薬を用いた。ｓＣＤ１４―ＳＴは９２０ｎｇ/ ｍＬを閾値、ＰＣＴは１．８６ｎｇ/ ｍＬを閾値とした場合の生存率を示した。閾値は、それぞれ試験に登録された患者の来院時の測定値の中央値を用いた。閾値よりも低い値を示す患者群を「ａ」群とし、閾値又はそれよりも高い値を示す患者群を「ｂ」群とした。横軸は、患者来院後の経過日数を示す。縦軸は生存率（低くなるほど死亡率が高い）を示す。ＳＣＤ１４―ＳＴは、ＰＣＴに対し精度良く生存率を評価でき、また、死亡リスクを予測できることが判明した。

[0037] 《実施例４：ＰＣＴとｓＣＤ１４―ＳＴのＲＯＣ分析による比較評価》

敗血症が疑われた患者１４６名（実施例２と同じ）を対象に、来院時に採取した血漿検体のｓＣＤ１４―ＳＴ値とＰＣＴ値それぞれに対して来院後３０日以内の死亡率をＲＯＣ分析で比較を行った。ｓＣＤ１４―ＳＴ測定は、実施例１に従って行った。ＰＣＴ測定は、Ｋｒｙｐｔｏｒ ａｕｔｏｍａｔ

ｅｄ　ａｎａｌｙｚｅｒ（ＢＲＡＨＭＳ社，ドイツ）専用測定試薬を用いた。図4において、横軸は「１００―（特異度）」であり、縦軸は　感度」である。

[0038] ｓＣＤ１４―ＳＴのＡＵＣ（０．７７９）は、ＰＣＴのＡＵＣ（０．５２１）に対し大きかった。ＰＣＴは、米国ＦＤＡで敗血症の重篤度の程度を予測できるマーカーとして承認されているが、この結果からｓＣＤ１４―ＳＴの方が、高精度に予測できることが確認された。

[0039] 《実施例５：敗血症患者来院後７２時間以内の各採血ポイントにおけるＰＣＴとｓＣＤ１４＿ＳＴの値と生存率比較評価》

敗血症が疑われた患者を対象に、来院時、２４時間後、７２時間後に血漿検体を採取し、各採血ポイントのｓＣＤ１４―ＳＴ値、ＰＣＴ値に対して来院後３０日以内の死亡率をＲＯＣ分析により比較を行った。なお、全ての採血ポイントでデータが得られた患者（ｓＣＤ１４＿ＳＴ値は６８名を、ＰＣＴ値は３２名）を対象とした。ｓＣＤ１４＿ＳＴ測定は、実施例１に従って行った。ＰＣＴ測定は、Ｋｒｙｐｔｏｒ　ａｕｔｏｍａｔｅｄ　ａｎａｌｙｚｅｒ（ＢＲＡＨＭＳ社，ドイツ）専用測定試薬を用いた。結果を図５（ｓＣＤ１４―ＳＴ）及び図６（ＰＣＴ）に示す。来院時のＡＵＣを折れ線ａ、２４時間後のＡＵＣを折れ線ｂ、７２時間後のＡＵＣを折れ線ｃで示す。ｓＣＤ１４―ＳＴは、７２時間以内のいずれのポイントで測定しても、安定して精度よく、来院後３０日以内の死亡リスクを予測できることが示された。

[0040] 《実施例６：敗血症患者来院時におけるＰＣＴとｓＣＤ１４―ＳＴの値と予後の比較評価》

実施例２から５に先立って行った小規模な臨床試験において、敗血症が疑われた患者６８名を対象に、来院時に血漿検体を採取し、ＳＣＤ１４―ＳＴ値、ＰＣＴ値に対して来院後３０日以内の状態（人工呼吸治療、ＩＣＵ（集中治療室）への移動、透析、死亡）をＲＯＣ分析により比較を行った。ｓＣＤ１４＿ＳＴ測定は、実施例１に従って行った。ＰＣＴ測定は、Ｋｒｙｐｔｏｒ　ａｕｔｏｍａｔｅｄ　ａｎａｌｙｚｅｒ（ＢＲＡＨＭＳ社，ドイツ）

専用測定試薬を用いた。ＲＯＣ解析によるＡＵＣ値を表１に示す。ｓＣＤ１４＿ＳＴは、いずれの指標でもＰＣＴよりもそれらのリスクが高いことを予測することができ、更に、透析や死亡については、非常に精度良く予測できることが示された。

[0041] [表1]

状態 / マーカー	人工呼吸治療	透析	ＩＣＵへの移動	死亡
ＰＣＴ	０．５７８	０．５７６	０．６１１	０．５１７
ｓＣＤ１４－ＳＴ	０．６１１	０．８８２	０．６４６	０．８３８

産業上の利用可能性

[0042] 本発明は、敗血症が疑われる患者の予後（特には死亡リスク）の予測に利用することができる。

以上、本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自明の変形や改良は本発明の範囲に含まれる。

請求の範囲

[請求項1] 試料中のｓＣＤ１４—ＳＴを測定することを特徴とする、敗血症の予後の予測方法。

[請求項2] 敗血症の疑いが生じてから７２時間以内にｓＣＤ１４＿ＳＴを測定する、請求項１に記載の予測方法。

[請求項3] 予後予測が、敗血症における合併症併発の予測である、請求項１に記載の予測方法。

[請求項4] 敗血症の予後を予測するための、試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴを測定する方法。

[請求項5] 敗血症の疑いが生じてから７２時間以内にｓＣＤ１４-ＳＴを測定する、請求項４に記載の測定方法。

[請求項6] 敗血症の治療を行った後、ｓＣＤ１４—ＳＴを測定する、請求項４に記載の測定方法。

[請求項7] 予後予測が、敗血症における合併症併発の予測である、請求項４に記載の測定方法。

[請求項8] 敗血症が疑われる患者又は敗血症患者から採取した試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴを測定する工程、及び

ｓＣＤ１４—ＳＴ値が健常者と比較して高値である場合に予後不良であると判断する工程

を含む、敗血症の予後の予測方法。

[請求項9] 前記判断工程において、ｓＣＤ１４＿ＳＴ値と予め決定した閾値とを比較する、請求項８に記載の方法。

[請求項10] 前記判断工程において、ｓＣＤ１４—ＳＴ値と、予め決定した各分位群とを相関させる、請求項８に記載の方法。

[請求項11] 該ｓＣＤ１４＿ＳＴを免疫学的測定方法で測定する、請求項１～１０のいずれか一項に記載の方法。

[請求項12] 敗血症の予後を予測するキットであって、

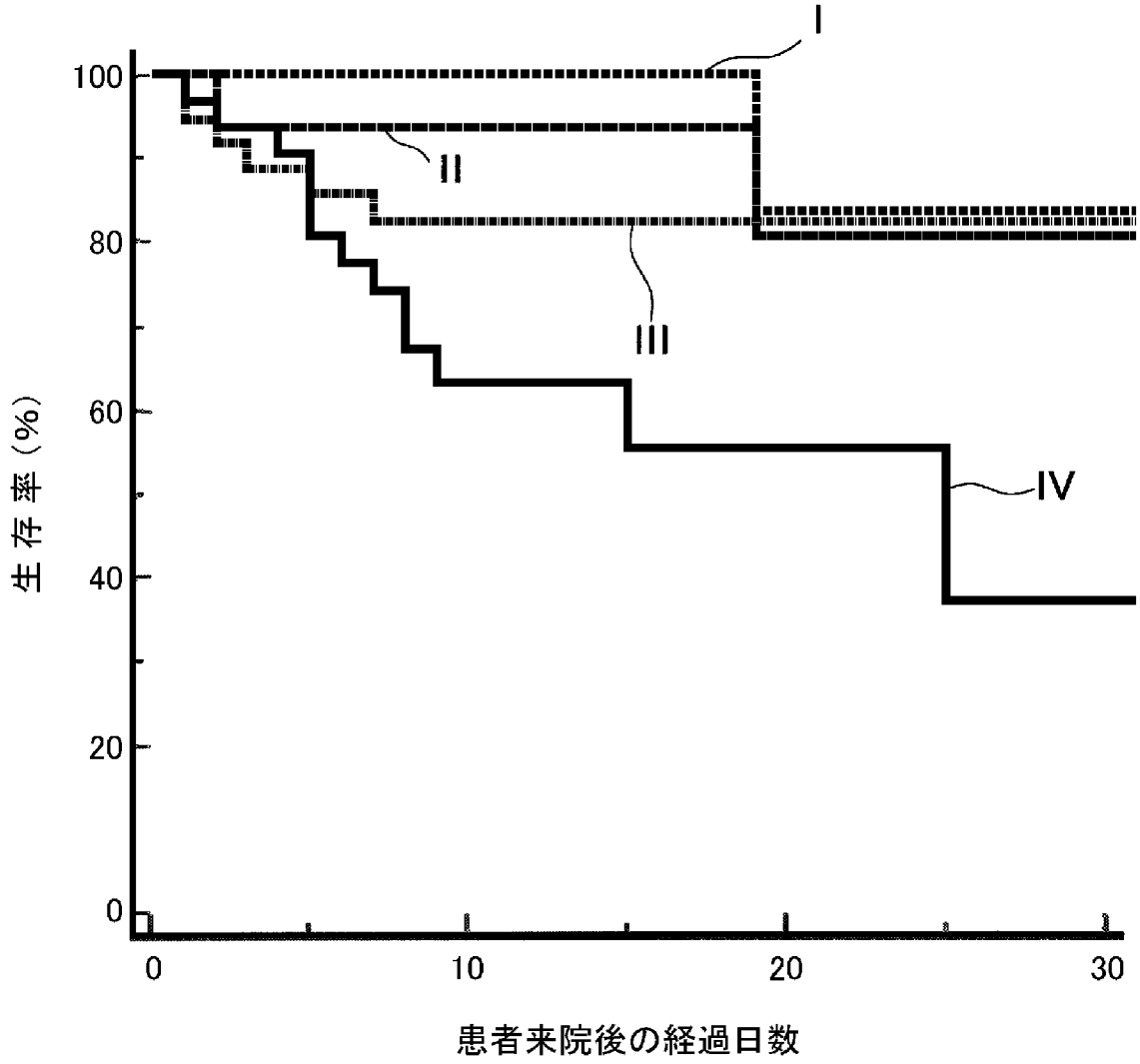
（ａ）ｓＣＤ１４＿ＳＴに特異的な抗体、

（ｂ）試料中のｓＣＤ１４＿ＳＴの量と予後との相関を示す標準データ、

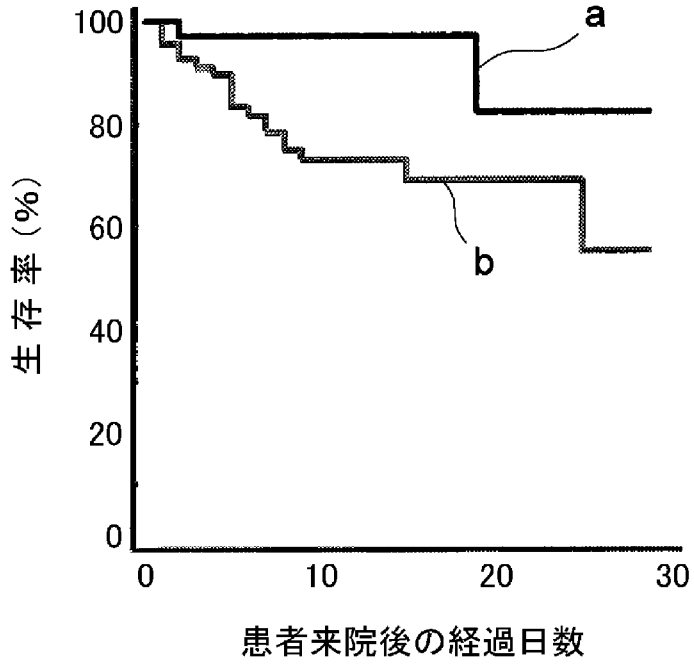
（ｃ）取扱説明書

を含む、該キット。

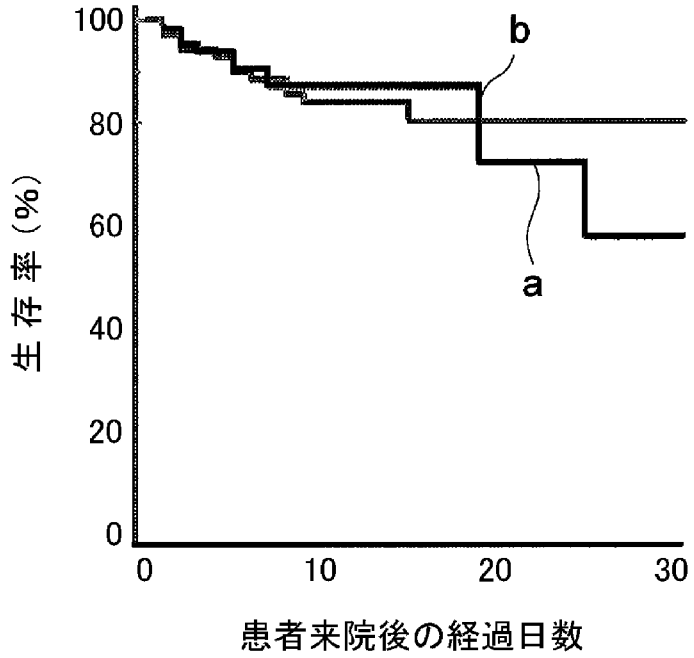
[図1]


I
II
III
IV
100
80
60
40
20
0
生存率（%）
0
10
20
30
患者来院後の経過日数

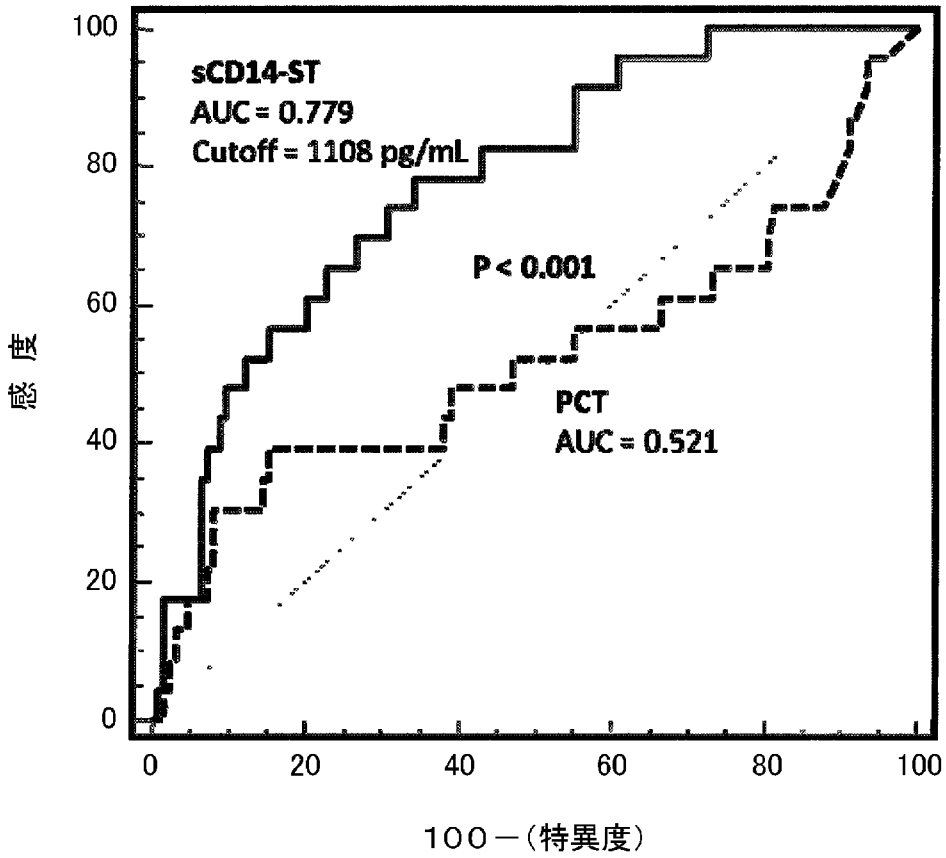
[図2]


a
b
100
80
60
40
20
0
生存率（%）
0
10
20
30
患者来院後の経過日数

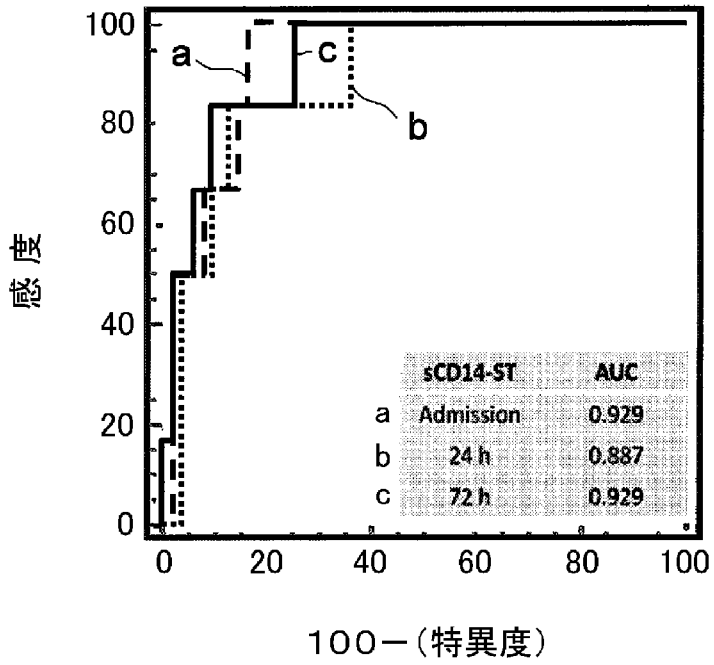
[図3]


100
80
60
40
20
0
生存率（%）
b
a
0
10
20
30
患者来院後の経過日数

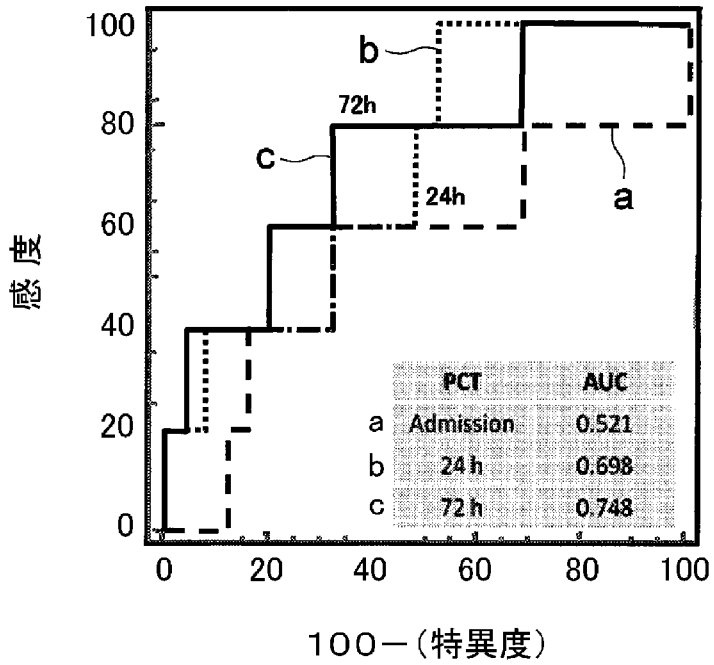
[図4]


100
80
60
40
20
0
感度
sCD14-ST
AUC = 0.779
Cutoff = 1108 pg/mL
P < 0.001
PCT
AUC = 0.521
0
20
40
60
80
100
100－（特異度）

[図5]


100
80
60
40
20
0
感度
a
c
b
sCD14-ST AUC
a Admission 0.929
b 24 h 0.887
c 72 h 0.929
0
20
40
60
80
100
100－(特異度)

[図6]


100
80
60
40
20
0
感度
b
72h
c
24h
a
PCT AUC
a Admission 0.521
b 24 h 0.698
c 72 h 0.748
0
20
40
60
80
100
100－(特異度)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT / JP2 012 / 050226

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N33/53 (2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JST Plus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Shigeatsu ENDO et al., "Usefulness of Soluble CD14 Subtype Which as Is a New Diagnostic Marker for Sepsis", Japan Journal of Critical Care for Endotoxemia, 2005, vol.9, no.1, pages 46 to 50	1-12
Y	WO 2009/142303 A1 (Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.), 26 November 2009 (26.11.2009), entire text; particularly, claims; paragraphs [0013], [0033] & US 2011/0086381 A1 & EP 2280279 A1 & CA 2725144 A & CN 102037359 A	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibnion or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying tiie invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 March, 2012 (15.03.12)	27 March, 2012 (27.03.12)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT / JP2 012/ 050226

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2010-520996 A (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co. KG.), 17 June 2010 (17.06.2010), entire text; particularly, claims & EP 2060920 A1 & EP 2118665 A & WO 2008/109903 A1 & AT 504943 A & CA 2680537 A & CN 101632022 A & RU 2009137583 A & AT 504943 A1	1-12
Y	JP 2008-525110 A (Biosite, Inc.), 17 July 2008 (17.07.2008), entire text; particularly, claims & JP 2007-518062 A & US 2005/0148029 A1 & US 2005/0164238 A1 & US 2008/0050832 A1 & US 2009/0004755 A1 & US 2010/0240078 A1 & EP 1836493 A & EP 1673465 A & EP 2167962 A & WO 2006/071583 A2 & WO 2005/033327 A2 & WO 2009/006347 A2 & CA 2537668 A	1-12

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2012/050226

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N33/53 (2006.01) i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922－
日本国公開実用新案公報	1971－2
日本国実用新案登録公報	1996－
日本国登録実用新案公報	1994－2

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	遠藤重厚 他，新しい敗血症の診断マーカーである可溶性CD14サブタイプの有用性について，エンドトキシン血症救命治療研究会誌，2005，Vol. 9, No. 1，Page. 46—50	1-12
Y	WO 2009/142303 A1 (持田製薬株式会社) 2009.11.26，全文、特に、請求の範囲、段落 [0013]、[0033] 等参照 & US 2011/008638 1 A1 & EP 2280279 A1 & CA 2725144 A & CN 102037359 A	1-12

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 15.03.2012	国際調査報告の発送日 27.03.2012
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100—8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 2J 4075 草川 貴史 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

様式PCT/ISA/210 (第2ページ) (2009年7月)

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	JP 2010-520996 A (ビオメディカ・メディツィーンプロドゥクテ・ゲゼルシャフト' ミット・ベシュレンクテル・ハフツング・ウント・コムパニー・コマンディットゲゼルシャフト) 2010. 06. 17, 全文、特に、【特許請求の範囲】等参照 & EP 2060920 A1 & EP 2118665 A & WO 2008/109903 AI & AT 504943 A & CA 2680537 A & CN 101632022 A & RU 2009137583 A & AT 504943 AI	1-12
Y	JP 2008-525110 A (バイオサイト インコーポレイテツド) 2008. 07. 17, 全文、特に、【特許請求の範囲】等参照 & JP 2007-518062 A & US 2005/0148029 AI & US 2005/0164238 AI & US 2008/0050832 AI & US 2009/0004755 AI & US 2010/0240078 AI & EP 1836493 A & EP 1673465 A & EP 2167962 A & WO 2006/071583 A2 & WO 2005/033327 A2 & WO 2009/006347 A2 & CA 2537668 A	1-12